

**Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»**

УТВЕРЖДЕНО

**Директор физтех-школы
биологической и медицинской
физики**

Д.В. Кузьмин

	Рабочая программа дисциплины (модуля)
по дисциплине:	Теория и практика геномной инженерии
по направлению:	Биотехнология
профиль подготовки:	Биотехнология и биомедицинская информатика Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики кафедра молекулярной и трансляционной медицины
курс:	1
квалификация:	магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен

Аудиторных часов: 45 всего, в том числе:

лекции: 30 час.

семинары: 15 час.

лабораторные занятия: 0 час.

Самостоятельная работа: 60 час.

Подготовка к экзамену: 30 час.

Всего часов: 135, всего зач. ед.: 3

Программу составил: В.Н. Лазарев, д-р биол. наук, доцент, профессор

Программа обсуждена на заседании кафедры молекулярной и трансляционной медицины 21.04.2023

Аннотация

Ознакомление студентов с современными технологиями геномного редактирования. Развитие у студентов системного подхода к анализу биологической информации. Студент получит фундаментальные понятия, законы, теории системной биологии

1. Цели и задачи

Цель дисциплины

- ознакомление студентов с современными технологиями геномного редактирования.

Задачи дисциплины

- знать фундаментальные основы различных технологий редактирования генома у прокариот и эукариот;
- знать особенности и область применения этих технологий в исследовательской работе и медицине.

2. Перечень формируемых компетенций

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ПК-1.2 Способен использовать специализированные знания фундаментальных разделов математики, физики, химии и биологии для постановки и решения научно-исследовательских задач в области биоинженерии и биоинформатики
	ПК-1.3 Способен выдвигать гипотезы, строить математические модели для описания изучаемых явлений и процессов, оценивать качество разработанной модели
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен самостоятельно планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях
ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)
	ПК-3.2 Способен проводить эксперимент (моделирование) с использованием исследовательского оборудования (пакетов прикладных программ)
	ПК-3.3 Способен оценивать точность полученных экспериментальных (численных) результатов
	ПК-3.4 Способен самостоятельно находить и осваивать новые информационные и программные ресурсы в области биоинженерии и биоинформатики
	ПК-3.5 Способен применять методы биоинженерии и биоинформатики для получения биологических объектов с целенаправленно измененными свойствами

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны знать:

1. Фундаментальные молекулярные основы технологий редактирования генома
2. Сферу применения технологии редактирования генома
3. Ограничения при использовании технологий редактирования генома

уметь:

1. Формулировать задачи для реализации профессиональных функций
2. Планировать экспериментальную работу, основываясь на имеющихся знаниях
3. Обобщать и систематизировать знания о теоретических положениях
4. Использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
5. Работать с научно-технической информацией

владеть:

1. Методами поиска необходимой достоверной информацией в библиотеках и базах данных
2. Методами подбора материалов

4. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

4.1. Разделы дисциплины (модуля) и трудоемкости по видам учебных занятий

№	Тема (раздел) дисциплины	Трудоемкость по видам учебных занятий, включая самостоятельную работу, час.			
		Лекции	Семинары	Лаборат. работы	Самост. работа
1	Введение в технологию редактирования генома. Предпосылки.	3	3		6
2	Технологии редактирования генома, основанные на белковых молекулах. Мегануклеазы, ZFN, TALEN	3			6
3	Система CRISPR/Cas как вариант адаптивного иммунитета. Принцип работы системы в бактериальных клетках	3	2		6
4	Технология редактирования генома CRISPR/Cas	3	2		6
5	Редактирование генома у бактерий	3	2		6
6	Редактирование генома дрожжей	3			6
7	Редактирование генома эукариотических клеток	3	2		6
8	Редактирование генома мыши	3	2		6
9	Белки аргонавты	3			6
10	Этические аспекты геномного редактирования	3	2		6
Итого часов		30	15		60
Подготовка к экзамену		30 час.			
Общая трудоёмкость		135 час., 3 зач.ед.			

4.2. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)

Семестр: 1 (Осенний)

1. Введение в технологию редактирования генома. Предпосылки.

- 1.1 Исторические аспекты и необходимость геномного редактирования
- 1.2 Технология индуцированного мутагенеза
- 1.3 Трансгенез.
2. Технологии редактирования генома, основанные на белковых молекулах. Мегануклеазы, ZFN, TALEN
 - 2.1 Система редактирования генома 1 поколения: мегануклеазы
 - 2.2 Система редактирования генома 2 поколения: ZFN
 - 2.3 Система редактирования генома 3 поколения: TALEN
 - 2.4 Система редактирования генома 4 поколения: CRISPR/Cas
3. Система CRISPR/Cas как вариант адаптивного иммунитета. Принцип работы системы в бактериальных клетках
 - 3.1 Белки Cas
 - 3.2 Механизм действия системы CRISPR/Cas в бактериальных клетках
 - 3.3 Адаптация бактериальной системы CRISPR/Cas для применения in vitro
4. Технология редактирования генома CRISPR/Cas
 - 4.1 Возможности и ограничения применения системы
 - 4.2 Модификации системы для повышения специфичности
 - 4.3 Регуляция экспрессии генов с помощью системы CRISPR/Cas
 - 4.4 Визуализация живых клеток с помощью системы CRISPR/Cas
5. Редактирование генома у бактерий
 - 5.1 Системы рекомбинации у E. coli. Сайт-специфическая рекомбинация.
 - 5.2 Фаговая трансдукция для редактирования генома бактерий.
 - 5.3 Система CRISPR/Cas для высокоэффективного редактирования E. coli.
 - 5.4 Регуляция уровня экспрессии генов у бактерий с помощью CRISPR/Cas
6. Редактирование генома дрожжей
 - 6.1 Системы редактирования генома дрожжей.
 - 6.2 Редактирование генома *Saccharomyces cerevisiae*
7. Редактирование генома эукариотических клеток
 - 7.1 Способы доставки компонентов системы CRISPR/Cas в эукариотические клетки
 - 7.2 Конструирование донорных молекул ДНК для проведения гомологичной рекомбинации, в том числе с позитивной/негативной селекцией.
 - 7.3 Регуляция уровня экспрессии генов в клетках эукариот с помощью системы CRISPR/Cas
 - 7.4. Использование активационных или нокаутных библиотек CRISPR/Cas в исследованиях
8. Редактирование генома мыши
 - 8.1 Мышь как модельный объект. Особенности использования.
 - 8.2 Способы геномного редактирования мышей
 - 8.3 Особенности селекционной работы при геномном редактировании мышей.
9. Белки аргонаты
 - 9.1 Механизмы РНК-интерференции у эукариот и прокариот
 - 9.2 Программируемые РНК-нуклеазы

10. Этические аспекты геномного редактирования

10.1 Клинические испытания генотерапевтических методов с применением геномного редактирования

10.2 Редактирование гена CCR5 для борьбы с ВИЧ.

10.3 Этические проблемы и рекомендации международной комиссии Национальной академии медицины по наследуемому редактированию генома человека

5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

- учебные аудитории для проведения занятий лекционного / семинарского типа;
- аудитории, оснащенные компьютерной техникой с подключением к сети «Интернет»;
- компьютер и мультимедийное оборудование (проектор, звуковая система),
- индивидуальные вычислительные средства студентов (персональные компьютеры) для выполнения домашних заданий.

6. Перечень рекомендуемой литературы

Основная литература

Данная литература выдается на базовой кафедре:

1. Редактирование генов и геномов/ отв. ред. С.М. Закиян, С.П. Медведев, Е.В. Дементьева, Е.А. Покушалов, В.В. Власов. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2018. - ISBN 978-5-7692-1578-0 т. 1 – 369 с. – ISBN 978-5-7692-1579-7 т. 2 – 386 с. – ISBN 978-5-7692-1580-3 т. 3 – 301 с. – ISBN 978-5-7692-1581-0
2. Методы редактирования генов и геномов/ С.М. Закиян, С.П. Медведев, Е.В. Дементьева, Е.А. Покушалов, В.В. Власов. - Новосибирск: Издательство СО РАН, 2020 г. - ISBN 978-5-7692-1670-1
3. CRISPR 101. A Desktop Resource. - 3rd Edition. Addgene. - Книга в электронном виде. https://info.addgene.org/hubfs/CRISPR_101_ebook/3rd%20edition/CRISPR-eBook-3rd-edition.pdf?hsCtaTracking=bf6f5328-0652-4ef5-ab78-dfa031255da0%7C1a1481f7-5c09-4f4c-9ebb-94fd110ce627

Дополнительная литература

Данная литература выдается на базовой кафедре:

1. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, Chen PJ, Wilson C, Newby GA, Raguram A, Liu DR. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. - Nature. 2019 Dec;576(7785):149-157. doi: 10.1038/s41586-019-1711-4. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31634902;
- 2 Xiao Q, Guo D, Chen S. Application of CRISPR/Cas9-Based Gene Editing in HIV-1/AIDS Therapy. Front Cell Infect Microbiol. 2019 Mar 22;9:69. doi: 10.3389/fcimb.2019.00069. PMID: 30968001;
3. Zhang D, Hussain A, Manghwar H, Xie K, Xie S, Zhao S, Larkin RM, Qing P, Jin S, Ding F. Genome editing with the CRISPR-Cas system: an art, ethics and global regulatory perspective. Plant Biotechnol J. 2020 Aug;18(8):1651-1669. doi: 10.1111/pbi.13383. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32271968;
4. Pickar-Oliver A, Gersbach CA. The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. Nat Rev Mol Cell Biol. 2019 Aug;20(8):490-507. doi: 10.1038/s41580-019-0131-5. PMID: 31147612
5. Rodríguez-Rodríguez DR, Ramírez-Solís R, Garza-Elizondo MA, Garza-Rodríguez ML, Barrera-Saldaña HA. Genome editing: A perspective on the application of CRISPR/Cas9 to study human diseases (Review). Int J Mol Med. 2019 Apr;43(4):1559-1574. doi: 10.3892/ijmm.2019.4112. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30816503

7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине (модулю), включая перечень необходимого программного обеспечения и информационных справочных систем (при необходимости)

<https://www.benchling.com/crispr>

<http://chopchop.cbu.uib.no/>

<http://www.rgenome.net/cas-offfinder/>

<http://crispor.tefor.net/>

9. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля)

Студент, изучающий дисциплину, должен с одной стороны, овладеть общим понятийным аппаратом, а с другой стороны, должен научиться применять теоретические знания на практике. В результате изучения дисциплины студент должен знать основные определения дисциплины, уметь применять полученные знания для решения различных задач.

Успешное освоение курса требует:

- посещения всех занятий, предусмотренных учебным планом по дисциплине;
- ведения конспекта занятий;
- напряжённой самостоятельной работы студента.

Самостоятельная работа включает в себя:

- чтение рекомендованной литературы;
- проработку учебного материала, подготовку ответов на вопросы, предназначенных для самостоятельного изучения;
- решение задач, предлагаемых студентам на занятиях;
- подготовку к выполнению заданий текущей и промежуточной аттестации.

Показателем владения материалом служит умение без конспекта отвечать на вопросы по темам дисциплины.

Важно добиться понимания изучаемого материала, а не механического его запоминания. При затруднении изучения отдельных тем, вопросов, следует обращаться за консультациями к преподавателю.

Возможен промежуточный контроль знаний студентов в виде решения задач в соответствии с тематикой занятий.

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (МОДУЛЮ)

по направлению: Биотехнология
профиль подготовки: Биотехнология и биомедицинская информатика
Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики
кафедра молекулярной и трансляционной медицины
курс: 1
квалификация: магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен

Разработчик: В.Н. Лазарев, д-р биол. наук, доцент, профессор

1. Компетенции, формируемые в процессе изучения дисциплины

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ПК-1.2 Способен использовать специализированные знания фундаментальных разделов математики, физики, химии и биологии для постановки и решения научно-исследовательских задач в области биоинженерии и биоинформатики
	ПК-1.3 Способен выдвигать гипотезы, строить математические модели для описания изучаемых явлений и процессов, оценивать качество разработанной модели
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен самостоятельно планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях
ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)
	ПК-3.2 Способен проводить эксперимент (моделирование) с использованием исследовательского оборудования (пакетов прикладных программ)
	ПК-3.3 Способен оценивать точность полученных экспериментальных (численных) результатов
	ПК-3.4 Способен самостоятельно находить и осваивать новые информационные и программные ресурсы в области биоинженерии и биоинформатики
	ПК-3.5 Способен применять методы биоинженерии и биоинформатики для получения биологических объектов с целенаправленно измененными свойствами

2. Показатели оценивания компетенций

В результате изучения дисциплины «Теория и практика геномной инженерии» обучающийся должен:

знать:

1. Фундаментальные молекулярные основы технологий редактирования генома
2. Сферу применения технологии редактирования генома
3. Ограничения при использовании технологий редактирования генома

уметь:

1. Формулировать задачи для реализации профессиональных функций
2. Планировать экспериментальную работу, основываясь на имеющихся знаниях
3. Обобщать и систематизировать знания о теоретических положениях
4. Использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
5. Работать с научно-технической информацией

владеть:

1. Методами поиска необходимой достоверной информацией в библиотеках и базах данных
2. Методами подбора материалов

3. Перечень типовых (примерных) вопросов, заданий, тем для подготовки к текущему контролю

Во время текущего контроля студент должен уметь ответить на следующие вопросы:

1. Технология индуцированного мутагенеза. Особенности проведения. Трудности.
2. Область применения.
3. Трансгенез. Особенности проведения. Трудности. Область применения.
4. На каких технологиях вмешательства в геном основаны существующие и одобренные клинические протоколы генной терапии?
5. Для чего может потребоваться и оказаться эффективным редактирование геномной ДНК соматических клеток? Приведите не менее двух примеров.
6. Мегануклеазы. Структура, создание, особенности. Варианты модификации мегануклеаз. Принципы редактирования генома с помощью мегануклеаз.
7. ZFN. Структура, создание, особенности. Принципы редактирования генома с помощью ZFN.
8. TALEN. Структура, создание, особенности. Принципы редактирования генома с помощью ZFN.
9. Сходства и различия ZFN и TALEN. Ограничения на применение.
10. Специфичность RVD в системе TALEN. Принцип сборки TALEN на примере golden gate.
11. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Компоненты. Иммунитет бактерий.

Во время занятий могут проходить интерактивные обсуждения в чатах курса, что будет являться домашним заданием. Возможно выполнение патентного поиска в качестве самостоятельной задачи. Успешное выполнение всех заданий по курсу и выполнение контрольных срезов знаний дает преимущество на экзамене.

4. Перечень типовых (примерных) вопросов и тем для проведения промежуточной аттестации обучающихся

1. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Способы доставки компонентов внутрь клетки.
2. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Особенности подбора спейсерной последовательности для гидовой (направляющей РНК).
3. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Модификации системы CRISPR/Cas.
4. Основные молекулярные механизмы, участвующие в репарации двухцепочечных разрывов. Условия, влияющие на выбор клеткой пути репарации двухцепочечных разрывов.
5. Никазы. Виды. Особенности использования. Дизайн направляющих РНК для использования с никазами.
6. Нецелевые эффекты. Способы борьбы с неспецифической работой системы CRISPR/Cas. Особенность дизайна донорной молекулы ДНК для гомологичной рекомбинации.
7. Регуляция экспрессии генов с помощью CRISPR/Cas у прокариот
8. Способы повышения специфичности CRISPR/Cas систем. Модификации компонентов системы.
9. Способы повышения специфичности CRISPR/Cas систем. Адресная доставка компонентов системы.
10. Особенности геномного редактирования дрожжей.
11. Методы анализа геномного редактирования.
12. Определения числа копий трансгенов в ДНК.
13. Позитивная/негативная селекция при конструировании донорных молекул ДНК для гомологичной рекомбинации.
14. Технологии редактирования РНК
15. Подходы в редактировании геномной ДНК мыши. Особенности.
16. Технология Cre-LoxP. Принцип работы.
17. Принципы создания трансгенных и нокаутных мышей.
18. Иммуногенность компонентов CRISPR/Cas.

19 Чувствительность CRISPR/Cas систем к структуре хроматина
20 Технология prime editing. Особенности. Механизм.

Примеры билетов на экзамене

Билет №1

Нецелевые эффекты. Способы борьбы с неспецифической работой системы CRISPR/Cas. Особенность дизайна донорной молекулы ДНК для гомологичной рекомбинации.

Билет №2

Иммуногенность компонентов CRISPR/Cas.

Билет №3

Никазы. Виды. Особенности использования. Дизайн направляющих РНК для использования с никазами.

Критерии оценивания

Оценка отлично (10 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины, проявляющему интерес к данной предметной области, продемонстрировавшему умение уверенно и творчески применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (9 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (8 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, правильное обоснование принятых решений, с некоторыми недочетами.

Оценка хорошо (7 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но недостаточно грамотно обосновывает полученные результаты.

Оценка хорошо (6 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности.

Оценка хорошо (5 баллов) - выставляется студенту, если он в основном знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач достаточно большое количество неточностей.

Оценка удовлетворительно (4 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он освоил основные разделы учебной программы, необходимые для дальнейшего обучения, и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации.

Оценка удовлетворительно (3 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, допускающему ошибки в формулировках базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, слабо владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и с трудом применяет полученные знания даже в стандартной ситуации.

Оценка неудовлетворительно (2 балла) - выставляется студенту, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных принципов и не умеет использовать полученные знания при решении типовых задач.

Оценка неудовлетворительно (1 балл) - выставляется студенту, который не знает основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубейшие ошибки в формулировках базовых понятий дисциплины и вообще не имеет навыков решения типовых практических задач.

5. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности

При проведении устного экзамена обучающемуся предоставляется 30 минут на подготовку. Опрос обучающегося по билету на устном экзамене не должен превышать одного астрономического часа.